

# VHE ELISA

CE

DATE DE RÉVISION : 05/05
MBK 0011-FRA-0

**Remarque: modifications en surbrillance.**

REF 21150-096T (96 trousses de test)

## NOM ET APPLICATIONS

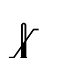
**Le test VHE ELISA de MP Diagnostics (MPD)** est un test par immunoadsorption avec enzyme conjugué destiné à la détection des anticorps IgG dirigés contre le virus de l'hépatite E (VHE) dans le sérum ou le plasma humain.

## DESCRIPTION DES SYMBOLES UTILISÉS

Ci-après les symboles graphiques utilisés sur les produits et emballages des produits **MP Diagnostics**. Ces symboles sont ceux qui apparaissant le plus fréquemment sur les dispositifs médicaux et sur leurs emballages. Ils sont décrits plus en détails dans la notice de normalisation "British and European Standard" BS EN 980: 2003.

Utiliser avant
*Synonyme :*
Date de péremption

Code du lot de fabrication
*Synonymes :*
Numéro de lot
Numéro de lot de fabrication


Conditions de conservation


Fabricante


Contenance suffisante pour <n> tests

Ne pas réutiliser

Équipement médical à usage diagnostique in vitro


Numéro du catalogue


Attention !
Voir les instructions d'utilisation


Représentant agréé dans la Communauté européenne


Consulter les instructions d'utilisation

## INTRODUCTION

Le diagnostic de l'hépatite virale résultant de l'infection par le virus de l'hépatite A (VHA) et le virus de l'hépatite B (VHB) est rendu possible par l'existence de tests sérologiques fiables et sensibles pour les marqueurs appropriés. L'absence clinique et diagnostique de marqueurs correspondant au VHA ou au VHB a permis d'identifier un autre groupe d'agents de l'hépatite virale regroupés sous le nom d'hépatites à virus non-A non-B (NANB) (1,2). Deux formes épidémiologiques distinctes d'hépatite NANB ont été identifiées, transmises soit par voie parentérale soit par voie orale/fécale (3,4,5). Le virus responsable de la plupart des cas d'hépatite NANB transmis par voie parentérale a été cloné (6). Le clonage de cet agent, dénommé virus de l'hépatite C (VHC), a permis la mise au point de tests diagnostiques visant à détecter l'anticorps dirigé contre le VHC.

Dans les pays en voie de développement, il existe une deuxième forme, épidémiologiquement distincte, d'hépatite NANB désignée sous le nom d'hépatite NANB à transmission entérique (ET-NANB). Les principales épidémies d'hépatite ET-NANB se sont produites en Asie, dans l'ancienne Union Soviétique, en Amérique centrale et en Afrique (7,8). La maladie évolue généralement sur un mode aigu et spontanément résolutif, sans apparition de séquelles chroniques. Elle s'accompagne toutefois d'une incidence élevée de la mortalité (10-20 %) chez les femmes enceintes (7) et d'un taux de mortalité de 1-2 % dans la population globale, soit un taux 10 fois supérieur à celui du VHA. L'agent étiologique de l'hépatite ET-NANB a été cloné (9) et dénommé virus de l'hépatite E (VHE). Le clonage du VHE par les scientifiques a permis d'identifier des épitopes viraux de type courant pouvant contribuer à la mise au point d'un test diagnostique de dépistage des anticorps dirigés contre le VHE (10). **Le test VHE ELISA de MP Diagnostics** utilise ces antigènes recombinants du VHE, issus de la région structurelle du génome viral, pour détecter la présence d'anticorps dirigés contre le VHE.

## PRINCIPES CHIMIQUES & BIOLOGIQUES DU TEST

Les puits des bandelettes de la microplaque en polystyrène sont recouverts de trois antigènes recombinants du VHE correspondant aux régions structurelles du virus de l'hépatite E. Les échantillons de sérum ou plasma humain, dilués dans un tampon diluant, sont mis en incubation dans ces puits recouverts. Les anticorps spécifiques au VHE, s'ils sont présents, se fixeront sur les antigènes VHE immobilisés sur la phase solide. Les puits sont lavés abondamment afin d'éliminer les substances non fixées et une anti-IgG humaine purifiée par affinité et marquée à la peroxydase de raifort est ajoutée aux puits. Cet anticorps marqué se fixera sur tout complexe antigène-anticorps préalablement formé et les anticorps marqués non fixés en excès seront éliminés par lavage. Un substrat contenant du 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine (TMB) est ensuite ajouté à chaque puit. La couleur bleue apparaissant après ajout du substrat indique la présence d'anticorps spécifiques. La réaction est achevée par l'ajout d'acide chlorhydrique. L'intensité de la coloration est déterminée par spectrophotométrie à 450 nm. Elle est proportionnelle à la quantité d'anticorps présente dans le prélèvement.

## ÉLÉMENTS DE LA TROUSSE

| | Description du matériel | Quantité fournie |
|---|---|---|
| MICROPLATE | **MICROPLAQUE VHE** Douze bandelettes de 8 puits par plaque, emballées dans un sachet aluminium contenant un agent de dessiccation. Chaque puits de la microplaque contient des protéines recombinantes adsorbées du VHE. Conserver entre 2 et 8°C. | 1 plaque (96 puits) |
|  | **CONTRÔLE NÉGATIF** Sérum humain normal inactivé, non réactif vis-à-vis de l'anti-VHC, l'anti-VHE, l'AgHBs et l'anti-VIH 1. Contient du thiomersal et de l'azide de sodium comme conservateurs. Conserver entre 2 et 8°C. | 1 flacon (160 µl) |
|  | **CONTRÔLE POSITIF** Sérum humain inactivé contenant un titre élevé en anticorps IgG spécifiques du VHE. Contient du thiomersal et de l'azide de sodium comme conservateurs. Conserver entre 2 et 8°C. | 1 flacon (120 µl) |
| DILUENT | **DILUANT** Solution saline à base de Tris contenant du sérum de chèvre normal traité par la chaleur, de l'albumine sérique bovine et des stabilisants. Contient du Bronidox™ comme conservateur. Conserver entre 2 et 8°C. | 1 flacon (100 ml) |
| WASH PLATE 20X | **SOLUTION CONCENTRÉE DE LAVAGE DE PLAQUE (20X)** Solution phosphate saline tamponnée avec du Tween 20. Contient du chloroacétamide comme conservateur. Conserver entre 2 et 8°C. | 1 flacon (120 ml) |
| CONJUGATE T | **CONJUGUÉ** IgG anti-humaine de chèvre marquée à la peroxydase de raifort. Contient du thiomersal comme conservateur. Conserver entre 2 et 8°C. | 1 flacon (70 µl) |
| SUBS TMB | **SUBSTRAT** Tampon contenant du 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine. Conserver à l'abri de la lumière entre 2 et 8°C. | 1 flacon (12,5 ml) |
|  | **SOLUTION D'ARRÊT** Solution d'acide chlorhydrique à 1 N. Conserver à l'abri de la lumière entre 2 et 8°C. | 1 flacon (30 ml) |
| | **FILMS COUVRE-PLAQUES** Films adhésifs pour couvrir la microplaque pendant l'incubation. | 4 pièces |
| | **MODE D'EMPLOI** | 1 exemplaire |

*Bronidox™ est une marque déposée de Henkel Chemical Co.*

## PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

1. Utilisation réservée au diagnostic *in vitro*.
2. Utilisation réservée aux professionnels.
3. Consulter l'emballage du produit pour connaître les composants susceptibles de présenter un risque biologi2que.

INFORMATIONS RELATIVES À LA SÉCURITÉ ET LA SANTÉ



**ATTENTION:** Cette trousse contient des substances d'origine humaine. Aucune technique de test ne permet de garantir totalement que les produits sanguins humains ne sont pas susceptibles de transmettre une infection.

**MANIPULER LES PRÉLÈVEMENTS À TESTER ET LES CONTRÔLES POSITIFS ET NÉGATIFS COMME S'IL S'AGISSAIT D'AGENTS POTENTIELLEMENT INFECTIEUX.** Il est recommandé de manipuler les composants et les spécimens à analyser conformément aux Bonnes pratiques de laboratoire. Ils doivent également être éliminés dans le respect des règles de sécurité en vigueur.

Le ***Contrôle positif*** et le ***Contrôle négatif*** contiennent du thiomersal et de l'azide de sodium. L'azide de sodium peut réagir au contact du cuivre et du plomb présents dans certaines tuyauteries pour former des sels explosifs. Les quantités utilisées dans cette trousse sont limitées. Toutefois, lors de leur élimination, les substances contenant des azides doivent être rincées abondament afin d'éviter la formation d'azides métallisés dans les tuyauteries.

1. Éviter toute contamination microbienne des réactifs lors de l'ouverture des flacons et du prélèvement des aliquotes de produit.

2. Ne pas pipeter avec la bouche.

3. Manipuler les spécimens à tester, les microplaques et les Contrôles positifs et négatifs comme s'il s'agissait d'agents potentiellement infectieux.

4. Porter une blouse de laboratoire et des gants jetables pendant le déroulement du test. Jeter les gants dans des sacs poubelle destinés aux matériaux présentant des dangers biologiques. Se laver abondamment les mains par la suite.

5. Il est fortement recommandé de procéder à ce test dans un local prévu pour les opérations présentant des dangers biologiques.

6. Ne pas placer d'aliments et de boissons à proximité des produits.

7. En cas d'accident ou de contact avec les yeux, rincer immédiatement avec une grande quantité d'eau et consulter un médecin.

8. Consulter immédiatement un médecin en cas d'ingestion de substances contaminées ou de mise en contact avec des plaies ouvertes ou autres lésions cutanées.

9. Ne jamais ajouter d'eau à la Solution d'arrêt.

10. Essuyer immédiatement les éclaboussures de substances potentiellement infectieuses à l'aide de papier absorbant et nettoyer la zone contaminée à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % avant de reprendre le travail. L'hypochlorite de sodium ne doit être utilisé sur les éclaboussures contaminantes acides à moins que la zone n'ait été préalablement essuyée et séchée à l'aide de papier absorbant. Le matériel utilisé (y compris les gants jetables) doit être éliminé comme s'il s'agissait de matériaux susceptibles de présenter un danger biologique. Ne pas mettre à l'autoclave les matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

11. Mettre tous les matériaux utilisés et contaminés à l'autoclave à 121°C (15 psi) pendant 30 minutes avant élimination. Il est également possible de décontaminer les matériaux dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5 % pendant 30 à 60 minutes avant de les éliminer dans des sacs poubelle pour produits présentant un danger biologique.

12. Décontaminer tous les produits chimiques et réactifs utilisés en y ajoutant le volume d'hypochlorite de sodium nécessaire pour arriver à une concentration finale d'au moins 1 %. Laisser reposer pendant 30 minutes pour garantir le succès de la décontamination.

PRÉCAUTIONS ANALYTIQUES

1. Le fonctionnement optimal du test n'est possible que dans le **RESPECT ABSOLU** de la procédure décrite dans ce Mode d'emploi. Le non-respect de cette procédure peut conduire à l'obtention de résultats aberrants.

2. **NE PAS MODIFIER OU ÉCHANGER DES RÉACTIFS PROVENANT DE TROUSSES DIFFÉRENTES.** La correspondance des contrôles, conjugué et microplaques a été étudiée pour un fonctionnement optimal. Utiliser uniquement les réactifs fournis avec la trousse.

3. Ne pas utiliser les composants de la trousse au-delà de la date de péremption figurant sur l'emballage de la trousse.

4. Éviter toute contamination microbienne des réactifs lors de l'ouverture des flacons et du prélèvement des aliquotes de produit. Ceci réduirait prématurément la durée de conservation des trousses et pourrait conduire à l'obtention de résultats erronés. Utiliser des techniques aseptiques, notamment les pipettes ou les embouts de pipette jetables, lors du prélèvement des aliquotes de produit dans les flacons.

5. Afin d'éviter toute contamination croisée, utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon et ne pas toucher le haut ou le bas des bandelettes, le bord des puits ou le liquide qu'ils contiennent avec les doigts ou l'embout de la pipette.

6. Il est recommandé de nettoyer la verrerie devant être utilisée pour les réactifs à l'aide d'acide chlorhydrique à 2M et de la rincer abondamment à l'eau distillée ou déionisée avant utilisation.

7. Pour des résultats optimaux, laisser tous les réactifs et échantillons arriver à température ambiante (25°C ± 3°C) avant utilisation. Après utilisation, les replacer immédiatement entre 2 et 8°C pour conservation.

8. Utiliser exclusivement de l'eau déionisée ou distillée de qualité réactif pour diluer les réactifs.

9. Tous les réactifs doivent être convenablement mélangés avant utilisation.

10. Le solution conjuguée de travail et le tampon de lavage dilué doivent être **préparés immédiatemnt avant leur utilisation.**

11. Ne pas exposer les réactifs ou réaliser les analyses dans une zone présentant un niveau élevé de vapeurs chimiques désinfectantes (par exemple, des vapeurs d'hypochlorite) au cours de leur conservation ou de l'incubation. Une telle mise en contact inhibe la réaction de coloration. Ne pas exposer non plus les réactifs à une forte luminosité.

12. Ne sortir les microplaques de leur pochette de conservation qu'au moment précis de leur utilisation. Les bandelettes non utilisées dont l'emballage a été ouvert doivent être conservées entre 2 et 8°C dans leur pochette de conservation avec l'agent de dessiccation fourni.

13. Les contrôles de la trousse doivent être dosés en même temps que les échantillons des patients à chaque cycle de test.

14. Prendre soin de ne pas toucher ou éclabousser le bord du puits avec le conjugué. Ne pas souffler dans la micropipette. Il est recommandé de procéder, dans la mesure du possible, à un pipetage inverse.

15. L'utilisation d'échantillons fortement hémolysés, de sérums non totalement coagulés, d'échantillons plasmatiques contenant de la fibrine ou d'échantillons ayant subi une contamination microbienne risque de conduire à l'obtention de résultats erronés.

16. **NE PAS INCUBER LES PLAQUES AU BAIN-MARIE.**

17. Les incubateurs à $CO_2$ ne doivent pas être utilisés.

18. Lors de l'incubation à 37°C, toute évaporation doit être évitée. Couvrir les plaques à l'aide des films adhésifs couvre-plaques fournis.

19. Éviter d'ouvrir et fermer trop fréquemment la porte de l'incubateur au cours des étapes d'incubation.

20. Ne pas conserver la solution d'arrêt dans un récipient peu profond et ne pas la replacer dans le flacon de stockage après utilisation.

21. Vérifier que le bas de la plaque est propre et sec et que la surface du liquide ne présente aucune bulle avant de lire les résultats sur la plaque. Supprimer les bulles du puits, en tapotant délicatement par exemple.

22. Avant utilisation, vérifier que les équipements automatisés, s'ils sont utilisés, sont validés.

23. Il est fortement recommandé de procéder régulièrement à l'entretien du système d'aspiration / de lavage afin d'éviter la contamination des spécimens négatifs par les spécimens fortement positifs.

## INSTRUCTIONS DE CONSERVATION

1. Conserver la trousse VHE ELISA MPD et ses composants entre 2 et 8°C en dehors des périodes d'utilisation.
2. Lorsqu'ils sont conservés entre 2 et 8°C, l'ensemble des réactifs et microplaques d'analyse restent stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur la trousse. Ne pas congeler les réactifs.
3. Des cristaux peuvent se former lorsque le Concentré de lavage de plaque (20x) est conservé entre 2 et 8°C. Ils doivent être dissous par réchauffement à 37°C avant utilisation.
4. Un précipité peut se former lorsque le Diluant est conservé entre 2 et 8°C. Ceci n'a aucune incidence sur le fonctionnement de la trousse.
5. Les bandelettes de microplaque non utilisées et dont l'emballage a été ouvert doivent être conservées avec l'agent de dessiccation fourni entre 2 et 8°C dans un sachet fermé.

## RECUEIL, TRANSPORT ET CONSERVATION DES PRÉLÈVEMENTS

Les échantillons doivent être conservés entre 2 et 8°C si l'analyse doit être réalisée dans les 7 jours suivant le prélèvement et congelés à -20°C ou température inférieure si l'analyse doit être réalisée plus de 7 jours après. Il est préférable d'utiliser des échantillons clairs, non hémolysés. Les échantillons lipémiques, ictériques ou contaminés (par des particule) doivent être filtrés (0,45µm) ou centrifugés avant analyse.

Le sérum des patients peut être inactivé mais ceci n'est pas indispensable au fonctionnement optimal du test.
Pour l'inactiver, procéder comme suit :

1. Retirer les bouchons des récipients contenant le sérum.
2. Chauffer le sérum à 56°C pendant 30 minutes au bain-marie.
3. Laisser refroidir le sérum avant de refermer les bouchons.
4. Le sérum peut être congelé pour être conservé jusqu'à l'analyse.

Il est déconseillé de soumettre le sérum du patient à des cycles répétés de congélation-décongélation.

## MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Papier absorbant jetable pour paillasse et serviettes en papier.
2. Tubes ou récipients en polypropylène.
3. Pipettes graduées : 5 ml, 10 ml.
4. Pipette à canaux multiples capable de distribuer 50 µl, 100 µl et 200 µl.
5. Pipette capable de distribuer 1-1000 µl.
6. Embouts de pipette jetables.
7. Réservoirs à réactifs (cuves rectangulaires) ayant une capacité de 25 ml.
8. Eau déionisée ou distillée de qualité réactif.
9. Flacons : 500 ml, 1 litre.
10. Un incubateur à 37°C.
11. Un lecteur de plaque en microdosage à double ($A_{450}$-$A_{620}$) ou simple ($A_{450}$) longueur d'onde.
12. Solution d'hypochlorite de sodium (5 %) ou eau e Javel liquide domestique.

## PRÉPARATION DES RÉACTIFS

**1. CONJUGUÉ DE TRAVAIL**

a. Le CONJUGUÉ DE TRAVAIL doit être **préparé immédiatement avant utilisation.**
b. Pour préparer le conjugué dilué, diluer le conjugué au 1/500 dans le diluant fourni avec la trousse (par exemple, 10 µl de conjugué pour 5 ml de diluant).
c. Utiliser exclusivement des récipients et tubes en polypropylène.
d. Consulter le tableau pour préparer le conjugué de travail.

**TABLEAU DE PRÉPARATION DU CONJUGUÉ**

| Nombre de tests | Vol. de conjugué (µl) | Vol. de diluant (ml) |
|---|---|---|
| 24 | 10,0 | 5,0 |
| 48 | 16,0 | 8,0 |
| 72 | 20,0 | 10,0 |
| 96 | 24,0 | 12,0 |

**2. TAMPON DE LAVAGE DILUÉ**

a. Le TAMPON DE LAVAGE DILUÉ doit être **préparé immédiatement avant utilisation.**
b. Diluer 1 volume de CONCENTRÉ DE LAVAGE DE PLAQUE dans 19 volumes d'eau distillée (de qualité réactif). Bien mélanger. Un volume d'approximativement 400 ml de tampon de lavage est nécessaire pour laver 1 plaque.

## PROCÉDURE DU TEST

**IMPORTANT : Les immunodosages de ce type sont sensibles à la température et dépendent du temps. Le respect absolu de la procédure d'analyse garantit le fonctionnement optimal du test. Le non-respect de la procédure recommandée peut conduire à l'obtention de résultats aberrants.**

1. Sortir la microplaque du sachet aluminium.

2. Secouer les flacons de prélèvement et de contrôle avant utilisation.

3. Remplir un réservoir à réactif de **DILUANT**. À l'aide d'une pipette à canaux multiples, ajouter 200 µl de **DILUANT** dans tous les puits. — 200 µl

4. Les puits A1 et B1 font office de **'BLANCS'. NE PAS AJOUTER DE PRÉLÈVEMENT DANS CES PUITS.** Ajouter 10 µl de diluant supplémentaires dans ces puits. — 10 µl

5. Ajouter 10 µl du spécimen au puits désigné à cet effet, en commençant par le puits H1. Ceci permettra d'obtenir une dilution finale du prélèvement de 1/ 21. **NE PAS METTRE DE SPECIMEN DANS UN PUITS VIDE.** — 10 µl

6. Une fois les prélèvements à analyser ajoutés, ajouter 10 µl de **CONTRÔLE NÉGATIF** par puits dans les puits C1, D1 & E1. — 10 µl

7. Ajouter 10 µl de **CONTRÔLE POSITIF** par puits dans les puits F1 et G1. Mélanger soigneusement en tapotant délicatement de chaque côté de la microplaque tout en veillant à ce que la plaque reste bien à plat sur la paillasse. — 10 µl

8. Recouvrir la microplaque avec précaution à l'aide de l'un des films couvre-plaques fournis afin d'éviter toute évaporation pendant l'incubation.

9. **Laisser incuber pendant 30 minutes à 37°C. (Ne pas incuber à 37°C au bain-marie.)** — 30 minutes

10. Préparer le **CONJUGUÉ DE TRAVAIL** comme indiqué dans la section **PRÉPARATION DES RÉACTIFS** avant de laver la microplaque.

11. Retirer et jeter le film couvre-plaque, puis laver la microplaque à l'aide de **TAMPON DE LAVAGE DILUÉ** selon l'une des deux méthodes recommandées. — 300 µl par puits x 6

    A. Laveur automatique ou semi-automatique de microplaque : Laver à six (6) reprises avec au moins 300 µl par puits et par lavage.

    B. Lavage manuel de la microplaque : Aspirer la totalité du contenu des puits en abaissant délicatement l'embout de l'aspirateur jusqu'au fond de chaque puit. **ATTENTION À NE PAS RAYER LA SURFACE INTERNE DES PUITS.** Remplir la totalité de la plaque avec au moins 300 µl/puits, puis aspirer immédiatement dans le même ordre. Répéter ce cycle à six (6) reprises.

12. Sécher la microplaque en la retournant sur un papier absorbant et en tapotant fermement. Il ne doit pas subsister de tampon de lavage. Tout résidu de tampon de lavage risque d'inhiber l'apparition de la coloration pendant l'incubation avec le substrat.

13. Remplir un réservoir à réactifs avec le **CONJUGUÉ DE TRAVAIL.** À l'aide d'une pipette à canaux multiples, ajouter 100 µl de **CONJUGUÉ DE TRAVAIL** dans chaque puits. Poser un nouveau film couvre-plaques. — 100 µl

14. **Incuber la microplaque pendant 30 minutes à 37°C. (Ne pas incuber à 37°C au bain-marie.)** — 30 minutes

15. Retirer et jeter le film couvre-plaques. Renouveler les étapes de lavage 11 et 12. — 300 µl par puits x 6

16. Remplir un réservoir à réactif avec la **SOLUTION DE SUBSTRAT.** À l'aide d'une pipette à canaux multiples, ajouter 100 µl de **SOLUTION DE SUBSTRAT** dans chaque puits. Poser un film couvre-plaques. — 100 µl

17. Incuber dans l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante (25 ± 3°C). — 15 minutes

18. Retirer et jeter le film couvre-plaques.

19. À l'aide d'une pipette à canaux multiples, ajouter 100 µl de **SOLUTION D'ARRÊT** dans chaque puits. Mélanger délicatement en tapotant la plaque. — 100 µl

20. Déterminer l'absorbance de chaque puits à 450 nm. Sur un appareil utilisant une longueur d'onde double, la longueur d'onde de référence doit être à 620 nm.

**REMARQUE : La lecture de l'absorbance doit être effectuée dans 10 minutes qui suit l'ajout de la SOLUTION D'ARRÊT.**

## CONTRÔLE DE QUALITÉ

1. Le BLANC et le CONTRÔLE POSITIF doivent être analysés en double et le CONTRÔLE NÉGATIF en triple sur chaque plaque, pour chaque lot de spécimens.

2. L'absorbance du blanc doit être de ≤ 0,100.

3. L'absorbance du contrôle négatif doit être de ≤ 0,100 après soustraction du blanc.

4. Au moins 2 des 3 valeurs du contrôle négatif doivent présenter une absorbance de ≤ 0,100 après soustraction du blanc.

5. L'absorbance des 2 contrôles positifs doit être de ≥ 0,700 après soustraction du blanc. Lorsqu'une ou plusieurs des valeurs du contrôle positif s'écarte de plus de 30 % de la moyenne qui leur correspond, le dosage est invalide et doit être renouvelé.

6. Pour que l'analyse soit valide, la différence entre les absorbances moyennes du contrôle positif et du contrôle négatif (RC$\overline{x}$-NRC$\overline{x}$) doit être de 0,600 ou plus. Dans le cas contraire, le déroulement des opérations peut être mis en cause et l'analyse doit être répétée. Si la différence RC$\overline{x}$ - NRC$\overline{x}$ est systématiquement faible, la possibilité d'une détérioration des réactifs peut être envisagée.

## RÉSULTATS

Chaque microplaque doit être prise en compte séparément lors du calcul et de l'interprétation des résultats de l'analyse, indépendamment du nombre de plaques utilisées au cours d'une même analyse.

LES VALEURS D'ABSORBANCE MOYENNES DU BLANC DOIVENT ÊTRE SOUSTRAITES DES VALEURS D'ABSORBANCE DES CONTRÔLES COMME DE CELLES DES PRÉLÈVEMENTS AVANT INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS.

La présence ou l'absence d'anticorps IgG spécifiques dirigés contre le VHE est déterminée par comparaison de l'absorbance des spécimens par rapport à la VALEUR SEUIL de la plaque.

**La VALEUR SEUIL du test VHE ELISA MPD est calculée par addition de 0,500 à l'absorbance moyenne du contrôle négatif.**

## CALCUL DES RÉSULTATS

**1. Calcul de l'absorbance moyenne du contrôle négatif (NRC$\overline{x}$)**

| | | |
|---|---|---|
| Exemple : | Puits N° | Absorbance |
| | C1 | 0,048 |
| | D1 | 0,046 |
| | E1 | 0,047 |
| | Total | 0,141 |
| | Moyenne | 0,141/3 = 0,047 (NRC$\overline{x}$) |

a. Chaque valeur du contrôle négatif doit être de ≤ 0,100. Si l'une des valeurs du contrôle négatif ne répond pas aux critères ci-dessus, elle doit être considérée comme aberrante et être exclue. La moyenne du contrôle négatif (RC$\overline{x}$) doit alors être recalculée d'après les valeurs de contrôle négatif restantes. Toutes les valeurs de contrôle négatif restantes doivent répondre aux critères ci-dessus, sans quoi l'analyse est invalide et doit être répétée.

**2. Calcul de l'absorbance moyenne du contrôle positif (RC$\overline{x}$)**

| | | |
|---|---|---|
| Exemple : | Puits N° | Absorbance |
| | F1 | 1,048 |
| | G1 | 1,056 |
| | Total | 2,104 |
| | Moyenne | 2,104/2 = 1,052 (RC$\overline{x}$) |

a. Chaque contrôle positif doit être de ≥ 0,700. Si l'une des valeurs du contrôle positif ne répond pas aux deux critères ci-dessus, l'analyse est invalide et doit être répétée.

**3. Calcul de la différence entre RC$\overline{x}$ et NRC$\overline{x}$**

| | | |
|---|---|---|
| Exemple : | NRC$\overline{x}$ | = 0,047 |
| | RC$\overline{x}$ | = 1,052 |
| | RC$\overline{x}$ -NRC$\overline{x}$ | = 1,052 - 0,047 |
| | | = 1,005 |

Pour que le test soit valide, la valeur RC$\overline{x}$ -NRC$\overline{x}$ doit être de ≥ 0,600. Dans le cas contraire, une manipulation incorrecte ou une détérioration des réactifs peut être mise en cause et l'analyse doit être répétée.

**4. Calcul de la valeur SEUIL**

| | | |
|---|---|---|
| | Valeur SEUIL | = 0,500 + NRC$\overline{x}$ |
| Exemple : | NRC$\overline{x}$ | = 0,047 |
| | Valeur SEUIL | = 0,500 + 0,047 |
| | | = 0,547 |

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. Les spécimens dont les absorbances sont **inférieures** à la valeur SEUIL sont considérés comme **négatifs** au test VHE ELISA de MPD.
2. Les prélèvements dont les absorbances sont **supérieures ou égales à** la valeur SEUIL sont considérés comme **initialement positifs** d'après les critères du test VHE ELISA de MPD et doivent être réanalysés en double avant interprétation.
3. Les prélèvements apparaissant comme positifs après renouvellement de l'analyse doivent être interprétés comme **positifs reproductibles** vis-à-vis des anticorps dirigés contre le VHE d'après les critères du test VHE ELISA de MPD.
4. Les prélèvements initialement positifs apparaissant comme **négatifs** après renouvellement de l'analyse sont considérés comme **négatifs** d'après les critères du test VHE ELISA de MPD.

## CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT SPÉCIFIQUES

L'analyse aléatoire d'échantillons de donneurs de sang issus de régions non endémiques telles que l'Allemagne et l'Australie indique que la séroprévalence, environ 1-2 %, tend à être assez faible. Cependant, dans les pays tels que la Chine et Hong Kong où les flambées épidémiques de VHE se produisent au cours de la saison des pluies, une séroprévalence élevée, d'environ 15 %, est observée. La séropositivité vis-à-vis du test VHE ELISA MPD indique une exposition antérieure. La séropositivité des sujets sains au sein de populations à faible risque est très limitée, moins de 1 % environ, tandis que chez les sujets sains des régions endémiques, elle tend à être quelque peu plus élevée. Les infections par le VHE sont en bonne partie asymptomatiques, ce qui explique les cas de séropositivité en l'absence de la maladie.

## LIMITES DE LA MÉTHODE

Les résultats positifs de façon répétée au test VHE ELISA MPD indiquent la possible présence d'anticorps dirigés contre le VHE dans le spécimen. Un résultat **NÉGATIF** au test VHE ELISA MPD signale l'absence probable d'anticorps détectables, dirigés contre le VHE, dans le spécimen. Un résultat **NÉGATIF** ne permet pas d'exclure la possibilité d'une exposition au VHE ou d'une infection par le virus.

La possibilité de résultats faussement positifs doit être prise en compte avec les trousses d'analyse de ce type. La proportion de faux positifs dépend de la sensibilité et de la spécificité de la trousse d'analyse. Pour la plupart des tests de dépistage, plus la prévalence de l'anticorps est élevée dans une population, plus la proportion de faux positifs est réduite.

## LIMITES DE GARANTIE

Le fabricant ne garantit la trousse d'analyse que pour un usage diagnostique *in vitro* sous réserve que soient respectées les spécifications et limites décrites dans le Mode d'emploi du produit et que celui-ci soit utilisé conformément aux présentes instructions. Le fabricant décline toute responsabilité, explicite ou implicite, y compris celle, implicite ou explicite, liée à la qualité marchande, l'aptitude à l'emploi ou le fonctionnement implicite à une fin particulière. Le fabricant ne peut s'engager que sur un remplacement ou un remboursement du produit. Le fabricant ne peut être tenu responsable par l'acheteur ou toute autre partie d'aucune détérioration, blessure ou perte financière résultant de l'utilisation du produit. Le fabricant n'est pas en mesure de s'engager, implicitement ou explicitement, à ce que ce produit n'empiète pas sur les droits de propriété intellectuelle de tierces parties.

## PROBLÈMES TECHNIQUES / RÉCLAMATIONS

Dans l'éventualité d'un problème technique / d'une réclamation, procéder comme suit :

1. Noter le numéro de lot de la trousse et sa date de péremption.
2. Conserver les trousses et les résultats obtenus.
3. Contacter le bureau MP Biomedicals le plus proche ou votre distributeur local.

## BIBLIOGRAPHIE


1. Feinstone, S., A.Z. Kapikian, R.H. Purcell, H.J. Alter, and P.V. Holland. 1975. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. New England Journal of Medicine. 292: 767.

2. Prince, A.M., G.F. Grady, and C.Hazzi. 1974. Long-incubation post-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis B virus. Lancet 2: 241.

3. Alter, H.J., R.H. Purcell, P.V. Holland, and H. Popper. 1978. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. Lancet 1: 459.

4. Balayan, M.S., A.G. Andzhapandze, S.S. Savinskaya, E.S. Ketiladze, D.M. Braginski, A.P. Savinow, V.F. Poleschuk. 1983. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal oral route. Intervirology 20: 23.

5. Tabor, E., R.J. Gerety, J.A. Drucker, et al. 1978. Transmission of non-A, non-B hepatitis from man to chimpanzee. Lancet 1: 463.

6. Choo, Q.L., G. Kuo, A.J. Weiner, L.R. Overby, D.W. Bradley and M. Houghton. 1990. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B hepatitis genome. Science 244: 359.

7. Bradley, D.W. 1990. Enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. pp 442-461. In A.J. Zuckerman (ed) British Medical Bulletin 46(2). Churchill Livingstone, New York.

8. Purcell, R.H. and J.R. Ticehurst. 1988. Enterically transmitted non-A, non-B hepatitis: Epidemiology and clinical characteristis. pp. 131-137. In A.J. Zuckerman (ed). Viral Hepatitis and Liver Disease. Alan R. Liss Inc., New York.

9. Reyes, G.R., M.A. Purdy, J.P. Kim, K.C. Luk, L.M. Young, K.E. Fry, and D. Bradley. 1990. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. Science 247: 1335.

10. Yarbough, P.O., A.W. Tam, K.E. Fry, K. Krawczynski, K.A. McCaustland, D.W. Bradley and G.R. Reyes. 1991. Hepatitis E virus: Identification of type-common epitopes. Journal of Virology 65: 5790.

**MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.**
85 Science Park Drive
#04-01, The Cavendish
Singapore Science Park
Singapour 118259
Tél. : + 65 6775 0008
Fax : + 65 6775 4536
Courriel : enquiry_ap@mpbio.com




Medical Technology Promedt
Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert
Allemagne
Tél. : + 49 68 94 58 1020
Fax : + 49 68 94 58 1021
Courriel : info@mt-procons.com

**Bureaux régionaux :**

**MP Biomedicals Suisse S.A.**
Halle de Fret/Aeroport
P.O. Box 1015
1211 Genève 5
Suisse
Tél. : (4122) 788-1908
Fax : (4122) 788-1986
Courriel : mpbiosuisse@mpbio.com

| | |
|---|---|
| * Brevet États-Unis | 5,741,490; 5,770,689; 5,885,768; 5,686,239 |
| * Brevet Singapour | 39445, 49225 |
| * Australie | 644878 |
| * Taiwan | 63167 |
| * Corée du sud | 178399, 180530 |
| * Autres brevets en cours | |

* Le nom et le logo Genelabs sont concédés sous licence par Genelabs Technologies, Inc.